

可去除血小板的 EasySep™人祖细胞富集试剂盒

可处理 1 x 10⁹ 个细胞

产品号 #19356

#19356RF RoboSep™

负选

文档号 #10000029455 | 版本00



Scientists Helping Scientists™ | WWW.STEMCELL.COM

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

产品介绍

通过免疫磁珠负选，从新鲜或冻存的人脐带血或含有大量血小板的其他细胞制剂中分离出无磁珠标记且高纯度的造血祖细胞。

- 操作简单、快捷，且无需分离柱
- 纯度高达75%
- 分选得到的细胞不带标记

该试剂盒通过使用识别细胞特异性表面标志物的抗体来去除非祖细胞和血小板。非目的细胞用抗体和磁珠标记，并通过EasySep™磁极进行无柱分选。目的细胞被简单地倾倒出。分选后的细胞可立即用于下游应用，例如流式细胞术、培养或DNA/RNA提取。

包含组分

组分名称	组分号#	规格	储存方式	效期	成分
可去除血小板的EasySep™人祖细胞富集抗体混合物	19356C	1 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在PBS中的单克隆抗体混合物包含Fc受体阻断抗体。
EasySep™ D Magnetic Particles 磁珠	19250	2 x 1 mL	2 - 8°C 储存，勿冷冻。	具体效期请见标签。	保存在TBS中的磁珠悬浮液。

PBS - 磷酸盐缓冲液；TBS - TRIS缓冲盐溶液

试剂盒组分可在室温（15 - 25°C）下运输，但应按照上述说明进行储存。

样本制备

有关可用的新鲜和冻存样本，请参见 www.stemcell.com/primarycells。

全脐带血

通过在密度梯度离心液（如Lymphoprep™，产品号 #18060）上离心，从全脐带血中制备有核细胞悬液。如需更快地制备PBMC，可以使用SepMate™ RUO（产品号 #86450/86415）或SepMate™ IVD*（产品号 #85450/85415）细胞分选管。

如果使用冻存的单个核细胞，在室温（15 - 25°C）下用终浓度为100 µg/mL的DNase I溶液（产品号 #07900）孵育细胞至少15分钟，再进行标记和分选。使用37 µm的细胞过滤器（产品号 #27215）过滤细胞悬液去除团块，以获得最佳结果。

或者，可以使用氯化铵溶液（产品号 #07800）裂解来去除红细胞（RBCs）。

制备完成后，将细胞以5 x 10⁷细胞/mL的浓度重悬于推荐的缓冲液中。

*SepMate™ (IVD) 在特定地区作为体外诊断设备使用，其预期用途是通过密度梯度离心法从全血或骨髓中分离单个核细胞（MNCs）。SepMate™在符合21 CFR 820标准的cGMP质量管理体系下生产。在其他所有地区，SepMate™仅限于研究用途（RUO）。

推荐缓冲液

RoboSep™ Buffer 2（产品号 #20164）或含有0.5%牛血清白蛋白（BSA）和2 mM EDTA的PBS。缓冲液应该不含Ca⁺⁺和Mg⁺⁺。

使用指南 – EasySep™手动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关每种磁极的详细使用方法，请参阅表1。

表1.可去除血小板的EasySep™ 人祖细胞富集试剂盒操作流程

		EASYSEP™ 磁极	
步骤	说明	 EasySep™ (产品号 #18000)	 “The Big Easy” (产品号 #18001)
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.25 - 2 mL	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 2 - 8.5 mL
	将样本添加到所需的试管中。	5 mL (12 x 75 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: Corning 产品号 #352058)	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: Corning 产品号 #352057)
2	在样本中加入富集抗体混合物。 注意：不要涡旋抗体混合物。	50 µL/mL 样本	50 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育15分钟	室温孵育15分钟
3	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	30秒
4	将磁珠加入到样本中。	100 µL/mL 样本	100 µL/mL 样本
	混匀并孵育。	室温孵育5分钟	室温孵育5分钟
5	添加推荐的缓冲液，将样本定容至指定体积。通过轻轻上下吹吸2 - 3次来混匀。	定容至2.5 mL	定容至10 mL
	将试管（不加盖）放入磁极中并孵育。	室温孵育10分钟	室温孵育10分钟
6	拿起磁极，以一个连续的动作翻转磁极和试管*， 倾倒入上清液至一个新的试管中。	分选后的细胞可立即用于下游应用	分选后的细胞可立即用于下游应用

RT - 室温 (15 - 25°C)
*保持磁极和试管倒置2 - 3秒，然后翻转回直立位置。不要摇晃或擦拭掉仍可能挂在管口的任何液滴。

使用指南 – RoboSep™全自动实验流程

请参阅第1页了解样本制备和推荐缓冲液。有关RoboSep™的详细使用说明，请参阅表2。

表2.可去除血小板的RoboSep™人祖细胞富集试剂盒操作流程

步骤	说明	RoboSep™ (产品号 #21000)	
1	按指定细胞浓度制备样本，样本体积在范围内。	5 x 10 ⁷ 细胞/mL 0.5 - 8.5 mL	
	将样本添加到所需的试管中。	14 mL (17 x 100 mm) 聚苯乙烯流式管 (如: Corning 产品号 #352057)	
2	选择实验程序。	含去除血小板的人祖细胞负选19356	
3	涡旋磁珠。 注意：磁珠应呈均匀分散状态。	30秒	
4	加载转盘。	根据屏幕上的提示操作	
	启动实验程序。	按下绿色的“Run (运行)”按钮	
5	运行完成后，卸载转盘。	分选后的细胞可立即用于下游应用	

注意事项和提示

纯度评估

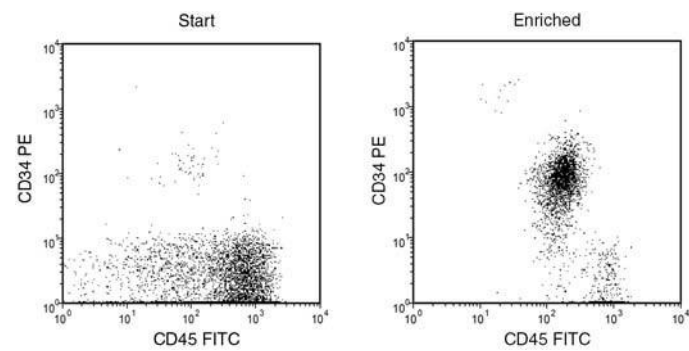
要通过流式细胞术评估CD34+细胞的纯度，请使用以下克隆号的流式抗体：

- 抗人CD34抗体，克隆581（产品号 #60013）或克隆8G12（产品号 #60121），以及
- 抗人CD45抗体，克隆HI30（产品号 #60018）或克隆2D1（产品号 #60123）

CD34+细胞的纯度通常以CD34+细胞占有CD45+活细胞的百分比表示。可通过活性染料PI（Propidium Iodide，产品号 # 75002）或7-AAD（7-Aminoactinomycin D；产品号 # 75001）排除死细胞，以评估细胞活性。

红系（BFU-E）、髓系（CFU-GM）和多谱系（CFU-GEMM）祖细胞的频率可以通过使用半固体培养基MethoCult™ H4034 Optimum（产品号 #04034）检测集落形成单位进行评估。

实验数据



起始样本为有核细胞，富集后的CD34+细胞含量通常为50 - 75%，具体取决于起始样本的质量。在上述实验中，起始样本和分选后的细胞纯度分别为2%和87%。

注：CD34+富集效果取决于起始样本中CD34+细胞的占比，不同脐带血样本中CD34+的占比会有差异。使用低质量的脐带血或冻存样本可能会导致富集后CD34+细胞含量较低。